Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Schwerd

Untersuchungen über den Nachweis von Enzympolymorphismen in der Samenflüssigkeit und von Haptoglobin sowie Gm (1), Gm (2) und Inv (1) in Sperma und Speichel

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hans Dieter Fehrer

aus Würzburg

Würzburg, den 10.11.1980

1981

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Schwerd

Untersuchungen über den Nachweis von Enzympolymorphismen in der Samenflüssigkeit und von Haptoglobin sowie Gm (1), Gm (2) und Inv (1) in Sperma und Speichel

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hans Dieter Fehrer

aus Würzburg

Würzburg, den 10.11.1980

Referent: Prof. Dr. med. W. Schwerd

Korreferent: Prof. Dr. med. E. Schulz

Dekan: Prof. Dr. med. K.-H. Wulf

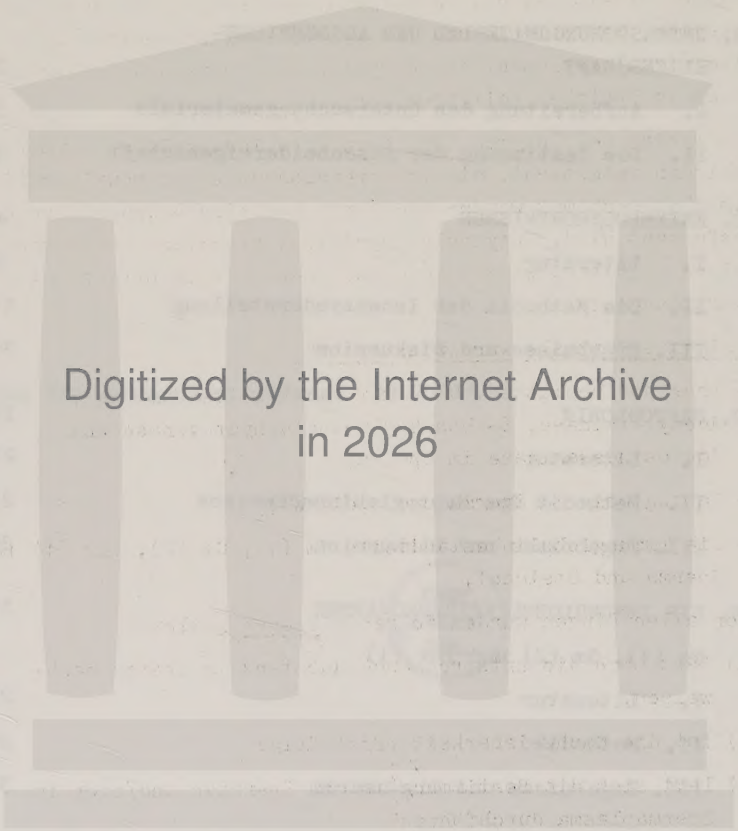
Tag der mündlichen Prüfung: 19.2.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN	1
B. UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND AUSSCHEIDER-EIGENSCHAFT	3
I. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials	3
II. Die Bestimmung der Ausscheidereigenschaft	4
C. ENZYMPOLYMORPHISMEN	6
I. Literatur	6
II. Die Methodik der Isoenzymdarstellung	11
III. Ergebnisse und Diskussion	15
D. HAPTOGLOBIN	23
I. Literatur	23
II. Methodik des Haptoglobinnachweises	23
III. Ergebnisse und Diskussion	25
E. DIE IMMUNGLOBULINEIGENSCHAFTEN Gm (1), Gm (2) und Inv (1)	27
I. Literatur	27
II. Methodik	29
III. Ergebnisse und Diskussion	31
F. ZUSAMMENFASSUNG	36
G. LITERATUR	38



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0073

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

Der Nachweis von genetisch determinierten Polymorphismen zur Individualbestimmung im Blut wird heute routinemäßig durchgeführt. Es besteht ein großes Interesse an der Bestimmung solcher Eigenschaften auch in Sekreten. Das Ziel dieser Arbeit ist es, darzulegen, inwieweit der Nachweis von Enzymen, Haptoglobin und Immunglobulineigenschaften zu einer Individualbestimmung im menschlichen Sperma und teilweise auch im Speichel beitragen kann.

Es wurden bei Enzymen und Immunglobulinen solche Polymorphismen untersucht, die im forensischen Labor routinemäßig im Blut bestimmt werden und deren genetische Grundlagen gut erforscht sind. Enzympolymorphismen, die diese Bedingungen nicht erfüllen, werden in einer Übersicht im Literaturteil kurz dargestellt.

Folgende Merkmale wurden untersucht:

- Phosphoglucomutase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Adenylatkinase, 6-Phosphogluconatdehydrogenase und Adenosindesaminase im Sperma;
- Haptoglobin in Sperma und Speichel;
- Die Immunglobulinbestandteile Gm (1), Gm (2), Inv (1) in Sperma und Speichel.

Vor allen Dingen wurden folgende Fragen geklärt:

a) Läßt sich die entsprechende Substanz im Sperma nachweisen?

b) Ist die Nachweisbarkeit regelmäßig?

c) Läßt sich die Bestimmung in den Spermien und/oder im Spermaplasma durchführen?

d) Läßt sich ein Nachweis in Spermaflecken (und für die Immunglobulinsysteme auch im Speichelflecken) erbringen?

e) Ist der Nachweis von der Lagerungsdauer der Proben bzw. Flecken abhängig?

f) Stimmt der in Sperma, Speichel und Blut ermittelte Phänotyp überein?

g) Besteht eine Korrelation zwischen der Ausscheidereigenschaft und der Präsenz der verschiedenen Merkmale in Sperma und Speichel?

B. UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND AUSSCHEIDEREIGENSCHAFT

I. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

Für die Untersuchungen wurden Blut-, Sperma- und Speichelproben von jedem Probanden benötigt. Insgesamt wurden Proben von 64 Versuchspersonen entnommen. Einen Teil der Proben stellte uns freundlicherweise die Universitätshautklinik Würzburg zur Verfügung,[1)] ein weiterer Teil wurde von männlichen Probanden im Alter von 21 bis 55 Jahren gewonnen.

Die Aufbereitung der Proben:

a) Blutproben:

Die Proben wurden aus der Vene entnommen; sie wurden nach der Gewinnung in geronnenem Zustand bis zur Weiterbehandlung im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend wurden die Proben zentrifugiert (5 min. bei 3000 Upm), das Serum abpipettiert und der Blutkuchen durch ein feines Sieb passiert. Das Filtrat wurde mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und in der Zentrifuge 3 x gewaschen (jeweils 5 min. bei 3000 Upm). Das gewaschene Erythrozytensediment wurde mit 2-3 Tropfen Aqua dest. versetzt und bei -15 bis -20°C eingefroren. Das Serum wurde bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

b) Spermaproben:

Vor der Gewinnung des Ejakulates wurde auf eine Karenzzeit von 4 bis 7 Tagen geachtet.
Nach der Verflüssigung des Ejakulates wurde in der Hautklinik bzw. in unserem Labor mikroskopisch geprüft, ob im Sperma intakte Spermatozoen vorhanden waren. Ejakulate mit Azoospermie wurden verworfen.

---

1) Für die Überlassung der Proben danken wir Herrn Prof. Dr. Röckl, Direktor der Universitäts-Hautklinik. Die Verwendung von Spermaproben mit pathologisch verändertem Zellanteil erschien unbedenklich. SCHULZ (1972) stellte bei der Arbeit mit ähnlichen Proben keine Abweichung vom Verhalten der Proben von gesunden Probanden fest.

Das Sperma wurde bis zur Weiterbehandlung teils im Kühlschrank und teils eingefroren aufbewahrt. Die Lagerungsdauer betrug bis zur Weiterbehandlung und Untersuchung zwischen 24 Stunden und 7 Tagen.
Anschließend wurde von den Proben ein Teil abpipettiert und eingefroren. Der Rest der Spermaflüssigkeit wurde zentrifugiert (5-10 min., 3000 Upm), sodann wurde das Spermaplasma ebenfalls abpipettiert und eingefroren. Das Spermiensediment wurde dreimal in der Zentrifuge mit 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen und mit 1-3 Tropfen Aqua dest lysiert.

Spermaflecken:

Von den Ejakulaten aus der Universitätshautklinik wurde 1-3 Tage nach der Gewinnung je ein Spermafleck auf Leinenläppchen mit einem Durchmesser von 4 cm angelegt. Von den anderen Proben wurde kurz nach der Ejakulation Spermaflüssigkeit auf Leinenläppchen aufgebracht. Die Läppchen wurden nach Antrocknen des Spermas bis zur Untersuchung in Plastiktütchen aufbewahrt.

c) Speichelproben:

Von allen Probanden wurde Speichel mit Hilfe eines Strohhalms direkt in ein Reagensglas gebracht. Die Speichelproben wurden wiederum teils im Kühlschrank und teils im Gefrierschrank aufbewahrt.

Speichelflecken:

Für die Bestimmung von Gm- und Inv-Eigenschaften im Speichelflecken wurden von Proben, die höchstens eine Woche alt waren, Flecken auf Leinenläppchen angelegt.

II. Die Untersuchung der Ausscheidereigenschaft[1)]

Um eine möglichst exakte Zuordnung innerhalb des Se-

---

1) Auf die Grundlagen der Ausscheidereigenschaft kann hier nicht näher eingegangen werden; eine gute Übersicht geben RACE und SANGER (1975).

kretor-Nonsekretor-Systems zu erreichen, wurde jeweils die Ausscheidereigenschaft in Sperma und Speichel mit Hilfe des Agglutinationshemmtests bestimmt. Für die Untersuchung des Ausscheidertyps wurde ein Extrakt aus Ulex Europaeus (Lectin-H der Firma DADE, Miami/USA) verwendet, der hierfür gut geeignet ist (SCHULZ, 1972).

Methodik:

Die Untersuchung der Ausscheidereigenschaft wurde weitgehend in Anlehnung an die Angaben von SCHULZ (1972) durchgeführt: je ein Tropfen Speichel und Sperma wurden mit einem Tropfen Lectin-H versetzt; diese Gemische und ein Leeransatz (1 Tropfen NaCl und 1 Tropfen Lectin-H) wurden 24 Stunden bei +4°C inkubiert. Zur Titration wurde 0,9%ige NaCl-Lösung sowie eine ca. 0,5%ige Aufschwemmung von Erythrozyten der Blutgruppe 0 verwendet. Die Probengemische wurden in geometrischer Reihe verdünnt.
Im Gegensatz zu den Angaben von SCHULZ wurde der Speichel nativ verwendet.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse des Agglutinationshemmtests konnten nach spätestens 20 min. abgelesen werden.
Eine Agglutinationshemmung bei allen Verdünnungsstufen wurde als Ausdruck einer Ausscheidung von H-Substanz gewertet; als Zeichen einer Nichtausscheidung wurde ein Titerverlust über mindestens drei Titerstufen interpretiert.
Für die Bestimmung wurden Sperma- und Speichelproben verwendet, die bei 4°C gelagert worden waren.
Im Sperma konnte unabhängig von der Lagerungsdauer der 1 bis 20 Tage alten Proben die Ausscheidereigenschaft eindeutig bestimmt werden. In bis zu 10 Tage gelagertem Speichel war dies gleichfalls möglich, wobei die Ergebnisse mit den im Sperma erzielten übereinstimmten. In Speichelproben, die älter als ca. 10 Tage waren, zeigte sich in einem Teil der Proben von Ausscheidern bei keiner Titerstufe eine Agglutinationshemmung. In diesen Fällen wurden für die Feststellung des Ausscheidertyps nur die im Sperma gewonnenen Ergebnisse zugrundegelegt.

C. ENZYMPOLYMORPHISMEN

I. Literatur

a) Vom Autor nicht weiter untersuchte Enzympolymorphismen

Saure Phosphatasen sind in vielen Körpergeweben und auch im Sperma zu finden. Schon 1949 stellten ABUL-FADL und KING fest, daß die saure Phosphatase des Spermas nicht mit der Phosphatase der Erythrozyten identisch ist, die einen genetisch determinierten Polymorphismus aufweist. Andere Autoren berichteten später, daß die saure Phosphatase des Spermas aus der Prostata stammt und von anderen ubiquitär vorkommenden Phosphatasen differenziert werden kann (HÖHN und LEITHOFF, 1971; QUINLIVAN und SULLIVAN, 1972; ADAMS und WRAXALL, 1974; SUTTON und WHITEHEAD, 1975). Die Spermaphosphatase zeigt eine elektrophoretische Heterogenität, deren Genese seit längerer Zeit diskutiert wird; heute scheint festzustehen, daß die Heterogenität nicht durch einen genetisch gesteuerten Polymorphismus zustande kommt, sondern durch die Einwirkung unspezifischer Substanzen, wie z.B. der Neuraminsäure des Spermas, bedingt ist (OEPEN und Mitarb., 1971; SUR und Mitarb., 1962; OSTROWSKI u.a., 1965; SMITH und WHITBY, 1968; OSTROWSKI et al., 1970; UENO und YOSHIDA, 1973; SUTTON und WHITEHEAD, 1975; SUYAMA et al., 1976; Dieselben, 1977).

1976 berichteten CALDWELL und Mitarb. von der Entdeckung einer 'sperm diaphorase', die spezifisch nur in den Spermatozoen und im Hodengewebe nachzuweisen sei. Das Enzym weist nach den Feststellungen der Untersucher einen genetisch gesteuerten Polymorphismus auf und zeigt die drei Phänotypen 1, 2-1 und 2.

BLAKE und SENSABAUGH berichteten 1977 vom Vorkommen der Esterase D sowie einiger Peptidasen im menschlichen Sperma, deren Phänotypen mit denen im Blut übereinstimmten.

CHEN und Mitarb. (1976) suchten nach einem Polymorphismus der Phosphoglyceratkinase in der Spermaflüssigkeit, fanden jedoch nur ein einziges, konstantes Isoenzym.

b) Die Phosphoglucomutase (PGM)

Die Phosphoglucomutase (PGM) ermöglicht in Gegenwart von Glucose-1,6-diphosphat die Reaktion

Glucose-6-Phosphat = Glucose-1-Phosphat.

Die PGM spielt somit beim Glycogenauf- und abbau eine entscheidende Rolle. Das Enzym ist ubiquitär verbreitet.

SPENCER et al. (1964) gelang mit Hilfe der horizontalen Stärkegelelektrophorese die Darstellung von Isoenzymen in Hämolysaten und Homogenisaten verschiedener Körpergewebe. Im forensischen Labor werden die drei häufigen Phänotypen des PGM_1-Locus (Phänotyp 1, 2-1 und 2) wegen des relativ einfachen Nachweises routinemäßig bestimmt (PROKOP, 1976).

Nach der Entdeckung des genetischen Polymorphismus der PGM im Blut wurde versucht, dieses Enzym auch zur Typisierung anderer Körperflüssigkeiten und -gewebe sowie von Blut-, Sperma- und Sekretspuren zu verwenden. RENNINGER und SINA (1970) untersuchten 38 Spermaproben und stellten fest, daß die Spermien PGM enthielten. Auch BRINKMANN und KOOPS (1971) bestätigten die Anwesenheit von PGM in Spermatzozoen. CULLIFORD (1971) konnte auch in der Spermaflüssigkeit PGM nachweisen. Sowohl RENNINGER und SINA als auch CULLIFORD berichteten, daß sie keine qualitativen Unterschiede zwischen den Phänotypen der Spermaproben und denen der homologen Hämolysate festgestellt hätten. RENNINGER und SINA sahen jedoch quantitative Unterschiede in den einzelnen Isoenzymbanden. 1971 wiesen RADAM und STRAUCH PGM-Phänotypen sowohl im Spermaflecken als auch an Sekret der vesicula seminalis und im Cervicalsekret nach. 1974 bestätigten REES und ROTHWELL die Ergebnisse von CULLIFORD: auch ihnen war es möglich, in nativem Sperma

PGM nachzuweisen.
PRICE und Mitarbeiter (1976) konnten PGM-Phänotypen nur in frischem und reichlichem Material bestimmen. Sie stellten fest, daß auch an Scheidentampons PGM-Aktivität nachzuweisen war.

REES und ROTHWELL (1976) fanden Isoenzyme der PGM auch in Vaginalsekret, Urin und Speichel. Sie stellten fest, daß bei Vermischung dieser Flüssigkeiten und bei Flekken, die aus einer solchen entstehen, eine eindeutige Bestimmung der PGM-Phänotypen wegen Interferenzen zwischen den Phänotypen zweier verschiedener Individuen nicht mehr möglich war.

Die besondere Bedeutung der PGM bei der Untersuchung von Spuren liegt in der großen Stabilität des Enzyms. CULLIFORD (1967) konnte in angetrockneten Blutflecken bis zu einer Lagerungsdauer von drei Monaten PGM-Phänotypen nachweisen. BRINKMANN (1971) gelang dies bis zu sieben, OEIEN (1970) bis zu 20 Wochen. Die gute Anwendbarkeit der Typisierung von Blutflecken mit Hilfe der PGM bestätigt auch ROTHWELL (1970). ROTHWELL und SAYCE (1974) konnten in verschiedenen Körpergeweben noch nach einer Lagerungsdauer von mehreren Wochen PGM-Aktivität nachweisen.

Auch in angetrocknetem Sperma ließen sich PGM-Phänotypen längere Zeit nachweisen. RADAM und STRAUCH gelang dies bis zu einem Fleckenalter von 3 Monaten. Von einem Nachweis in bis zu fünf Monate alten Spermaflecken berichtete RADAM 1977. In unserem Institut war in früheren Untersuchungen ein Nachweis in Flecken bis zu einer Lagerungsdauer von 18 Monaten möglich.

Das Vorkommen von PGM im Spermaplasma stellten BLAKE und SENSABAUGH (1976) fest. RADAM (1977) berichtete, daß auch in der Spermaflüssigkeit von Probanden mit einer Azoospermie PGM nachzuweisen sei.

PROKOP (1976) meinte, daß die PGM, die im Spermaflecken nachzuweisen ist, zum größten Teil aus der vesicula

seminalis stammt, ohne dies näher zu begründen.

c) Die Glutamat - Pyruvat - Transaminase (GPT)

Die Glutamat - Pyruvat - Transaminase (GPT) katalysiert bei Anwesenheit von Pyridoxal - 5 - Phosphat die Reaktion

L-Alanin + 2-Oxoglutarat = Pyruvat + L-Glutamat.

Das Enzym spielt somit eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Aminosäuren.

CHEN und GIBLETT (1971) entdeckten mit Hilfe der vertikalen Stärkegelelektrophorese in menschlichen Hämolysaten einen genetisch determinierten Polymorphismus der GPT-Isoenzyme. Heute kennt man neben den drei unterschiedlich häufigen Phänotypen 1, 2-1 und 2 einige Sondertypen (PROKOP, 1976).

Wie RADAM 1977 berichtete, ist sowohl an Seren gesunder Spender als auch an Sekret aus der vesicula seminalis eine GPT-Typisierung vorzunehmen, die mit dem GPT-Typ der homologen Hämolysate übereinstimmt.

Die Möglichkeit der Typisierung von Blutflecken überprüfte WELCH (1972, a): Bis zu einer Lagerungsdauer von zwei Wochen konnte er noch in allen Flecken eine GPT-Bestimmung vornehmen, bei einem Fleckenalter von vier Wochen war dies in keinem Fall mehr möglich.

d) Die Adenylatkinase (AK)

Die Adenylatkinase (AK) katalysiert die Reaktion

ATP + AMP = 2 ADP

und hat somit bei der Nucleotidsynthese eine wichtige Funktion zu erfüllen. Bei Untersuchungen an Erythrozyten und Muskelgewebe fanden FILDES und HARRIS (1966) die relativ häufigen elektrophoretisch unterscheidbaren Phänotypen 1, 2-1 und 2; später wurden noch einige seltene Typen beschrieben (PROKOP, 1976).

FILDES und HARRIS (1966) stellten fest, daß die AK ei-

ne große Hitze- und Säurestabilität besitzt. Die Lagerungsstabilität in Blutproben wird von RADAM (1977) als normalerweise ausreichend, jedoch nicht überragend beschrieben.

ROTHWELL (1970) und ROTHWELL und SAYCE (1974) berichteten, daß ein Nachweis von AK-Isoenzymen in Blutflecken bis zu einer Lagerungsdauer von fünf Monaten möglich war. Sie beobachteten, daß die AK - 2 - Bande schon nach kurzer Zeit in ihrer Aktivität nachließ.

Dieses Phänomen konnten auch BLAKE und SENSABAUGH (1976) beobachten, als sie die Adenylatkinase in zwei Spermaproben untersuchten. Sie wiesen die AK sowohl in den Spermien als auch im Spermaplasma nach.

1968 berichteten CULLIFORD und WRAXALL von einer besonderen Methode für den spurenkundlichen Nachweis von AK in Blutflecken, bei der die Elektrophorese in einem 1 mm dicken Gel durchgeführt wird.

e) Die Phosphogluconatdehydrogenase (6 - PGD)

Die 6-Phosphogluconatdehydrogenase katalysiert den zweiten Schritt des Pentosephosphatzyklus unter Anwesenheit von NADP nach der Reaktion

6-Phosphogluconat = Ribulose-5-Phosphat + CO_2.

Das Enzym ist weit verbreitet und kommt beim Menschen in zahlreichen Geweben vor (RADAM, 1977; PROKOP, 1976).

1963 berichteten FILDES und PARR über die elektrophoretische Heterogenität der 6 - PGD. Man kennt heute die zwei Phänotypen A und AB sowie einige seltene Varianten (PROKOP, 1976).

Die Lagerungsstabilität des Enzyms ist üblicherweise ausreichend (RADAM, 1977).

Im Sperma wurde die 6 - PGD von BRINKMANN und KOOPS (1971) erstmals untersucht. Sie beschrieben das Auftreten der 6 - PGD-Phänotypen in lysierten Spermazellen. BLAKE und SENSABAUGH (1976), die zwei Spermaproben un-

tersuchten, fanden die 6 - PGD in den Spermien, nicht aber im Spermaplasma. Alle vier Autoren fanden in den Spermien und den homologen Hämolysaten den gleichen 6 - PGD-Phänotyp. BLAKE und SENSABAUGH (1976) beschrieben eine stärkere anodale Mobilität der Sperma-6 - PGD, die nach ihrer Ansicht durch eine stärkere NADP-Sättigung des Spermas verursacht wurde.

f) Die Adenosindesaminase (ADA)

Die Adenosindesaminase (ADA) katalysiert den Abbau des Adenosins zum Inosin nach der Reaktion

$$\text{Adenosin} + H_2O \rightarrow \text{Inosin} + NH_2$$

und ist ein zum Nucleotidabbau erforderliches Enzym. Das in Mensch und Säugetieren weit verbreitete Enzym (PROKOP, 1976; BRADY und DONOVAN, 1965) wurde von SPENCER und Mitarb. (1968) in Erythrozyten untersucht. Sie berichteten von einer genetisch gesteurten Variabilität der ADA. Es zeigt im wesentlichen drei Phänotypen (1, 2-1 und 2), weiterhin gibt es mehrere Sondertypen (PROKOP, 1976).
BLAKE und SENSABAUGH (1976) berichteten, daß sie die ADA nicht im Sperma gefunden hatten.

In Blutproben konnte BRINKMANN (1971) ADA-Typen bis zu einer Lagerungsdauer von 3 Wochen, in Blutflecken bis zu einem Fleckenalter von fünf Monaten bestimmen.

II. Die Methodik der Isoenzymdarstellung[1)]

Die Darstellung aller Isoenzyme erfolgte mit Hilfe der horizontalen Stärkegelelektrophorese.

a) Die Darstellung der PGM- und GPT-Isoenzyme

Für beide Enzyme wurde dasselbe Elektrophoresesystem benutzt. (Angewendet wurde das Verfahren nach RITTER/KÖMPF modifiziert nach RAUSCHKE).[2)]

---

1) Frau Th. Schantura danken wir für die technische Assistenz
2) Persönliche Mitteilung

Der Brückenpuffer bestand aus 48,44 g Trispuffer, 46,40 g Maleinsäure, 14,88 g EDTA-Na_2 (Titriplex), 8,12 g MgCl, 19,20 g NaOH, die in 4 l Aqua dest. gelöst wurden. Die Lösung wurde anschließend mit 1 n NaOH auf einen pH von 7,2 eingestellt.

Für die Herstellung des Gelpuffers wurde der Brückenpuffer im Verhältnis 1:20 verdünnt und mit 0,1 n NaOH auf einen pH von 7,5 eingestellt.

Das Stärkegel wurde aus 8 g BIOTEST-Stärke und 39 g TORONTO-Stärke bereitet, die in 380 ml Gelpuffer gekocht wurden.

Die zu untersuchenden Proben wurden mit Hilfe von Filterpapieren der Firma SCHLEICHER und SCHÜLL (Nr. 2208) in das Gel eingeimpft. Aus den Spermaflecken wurde ein Stück von ca. 5 x 15 mm Größe geschnitten, mit einem Tropfen Aqua dest. versetzt und direkt in das Stärkegel eingebracht. Die Elektrophorese wurde in einer Kammer der Größe 35 x 23 cm durchgeführt. Bei einer Temperatur von 4°C und einer Spannung von 200 V betrug die Trennzeit 15 Stunden.

Die Färbung der Isoenzyme:

1) PGM: Der Färbepuffer (Trispuffer) wurde hergestellt aus 12,1 g Tris, 3,7 g EDTA-Na_2, 26,8 ml 2 n HCl, 10 ml $MgCl_2$, die in einem Liter H_2O gelöst wurden; der pH des Puffers betrug 8,0. In 20 ml Trispuffer wurden gelöst: 75 mg Glucose-1-Phosphat, 6 mg NADP, 6 mg MTT(Dimethylthiazolyl-diphenyltetrazolinbromid), 3 mg PMS(Phenazin-Methosulfat), eine Spatelspitze Glucose-1,6-Diphosphat und 0,015 ml Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase. Diese Lösung wurde mit einem Gel vermischt (bestehend aus 300 mg Agar purum und 93 mg Histidin, die in 40 ml Trispuffer gekocht und anschließend auf 45°C abgekühlt wurden). Das Färbegemisch wurde sodann auf den aufgeschnittenen Stärkeblock aufgetragen.

Nach einstündiger Inkubation bei 37°C konnten die PGM-Phänotypen der Hämolysate bestimmt werden. Für den exakten Nachweis der Phänotypen im Sperma wurde noch eine weitere Stunde inkubiert und der Stärkegelblock anschließend für 15 min. einer Temperatur von 4°C ausgesetzt.

2) GPT: Die Isoenzyme wurden nach der Negativ-Methode gefärbt. Für den Färbepuffer wurden 12,11 g Tris und 70 ml 1 n HCl in einem Liter Aqua dest. gelöst und das Gemisch auf einen pH von 7,6 eingestellt. In 50 ml Färbepuffer wurden 1,4 g D-L-Alanin, 20 mg α-Ketoglutarat, 40 mg NADH, 5 mg Pyridoxal-5-Phosphat, 5 mg MTT und 0,2 ml Lactatdehydrogenase gelöst und auf 45°C erwärmt. Das Inkubationsgemisch wurde dann mit Hilfe von Filterpapieren beidseits auf den aufgeschnittenen Stärkegelblock aufgebracht. Nach zweistündiger Inkubation bei 37°C wurde die eigentliche Färbelösung (5 mg PMS und 5 mg MTT in 50 ml Färbepuffer) über das Stärkegel gegossen. Nach 5 min. stellten sich die Spots dar.

b) Die Darstellung der AK- und 6 - PGD-Isoenzyme

Für beide Enzyme wurde dasselbe Elektrophoresesystem verwendet.

Der Brückenpuffer mit einem pH von 6,0 wurde hergestellt aus 527,5 g tert. Na - Citrat und 43 g Zitronensäure, die in 5 Liter Aqua dest. gelöst wurden.

Der Gelpuffer bestand aus 7,15 g KH_2PO_4, 2,8 g Na_2HPO_4 x 12 H_2O und Aqua dest. ad 5 l.

Für das Stärkegel wurden 11 g TORONTO- und 24 g BIO-TEST-Stärke in 350 ml Gelpuffer gekocht.

Zum Beimpfen des Stärkegels wurden Filterpapierchen 4 x 4 mm (SCHLEICHER und SCHÜLL) verwendet. Für die 18-stündige Trennzeit wurde eine Spannung von 150 V gewählt.

Die Färbung des aufgeschnittenen Gelblocks erfolgte wie PGM-Isoenzyme mit Hilfe der Agar-Overlay-Technik:

1) AK: Das Färbegel wurde hergestellt aus 300 mg Agar purum in 22 ml PGM-Trispuffer. Die Färbelösung bestand aus 110 mg Glucose, 220 mg MgCl, 26,4 mg ADP, 11 mg NADP, 6,6 mg MTT, 6,6 mg PMS, 0,080 ml Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und 0,022 ml Hexokinase in 15 ml Trispuffer.
Nach ein- bis zweistündiger Inkubation bei 37°C wurde ca. 15 min bei 4°C gekühlt.

2) 6-PGD: 200 mg Agar purum wurden in 20 ml PGM-Trispuffer gekocht und das Gel auf 55°C abgekühlt. Die Färbesubstanzen (1 g MgCl, 20 mg Gluconat-6-Phosphat, 4 mg NADP, 4 mg MTT und 1 mg PMS) wurden in dem Gel gelöst und auf den aufgeschnittenen Stärkegelblock gegossen. Die Dauer der Inkubation betrug 1 bis 2 Stunden bei 37°C.

c) Die Darstellung der ADA-Isoenzyme

Der Brückenpuffer bestand aus 465 ml einer Lösung von 68,05 g 0,5 m Kaliumdihydrogenphosphat in 1 l Aqua dest. und aus 190 ml einer Lösung von 89 g 0,5 m Di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat in 1 l H_2O.

Für das Gelpuffer wurde der Brückenpuffer im Verhältnis 1:10 verdünnt.

Das Stärkegel wurde aus 57 g TORONTO-Stärke und 380 ml Gelpuffer hergestellt.

Färbung:

Der Färbepuffer war ein Phosphatpuffer mit einem pH von 7,5. Er wurde hergestellt aus 0,5 g KH_2PO_4 und 3,8 g Na_2PHO_4 x 2 H_2O und 1 l Aqua dest.

Für das Färbegel wurden 550 mg Agar purum in 44 ml Färbepuffer gekocht.

Die Färbesubstanzen (33 mg Adenosin, 11 mg MTT, 11 mg

PMS, 0,044 ml Nucleosid-Phosphorylase und 0,044 ml Xanthin-Oxidase) wurden in 22 ml Färbepuffer gelöst und mit dem Gel vermischt. Das weitere Vorgehen entsprach dem oben angegebenen.

III. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen und Diskussion

a) Phosphoglucomutase

Die Ergebnisse der PGM-Darstellung in der Stärkegelelektrophorese sind in Tabelle I aufgeführt.

Insgesamt wurden 30 Blut- und 30 homologe Spermaproben untersucht. Das Alter der Proben 1 - 12 betrug zum Zeitpunkt der Aufbereitung und Untersuchung maximal 24 Stunden, das der Proben 13 - 30 4 - 6 Tage.

Nach der Anfärbung stellten sich die Spots im Stärkeblock bei Ansätzen aus Hämolysaten gut dar. Die PGM-Banden des Gesamtspermas, der Spermienlysate sowie des Spermaplasmas waren nicht immer so gut wie im Hämolysat nachzuweisen. Teilweise zeigten sich sehr schwach angefärbte Spots, sodaß eine exakte Typisierung nicht vorgenommen werden konnte. In nahezu allen Spermaproben, die untersucht wurden, konnte in einem der drei Ansätze (Gesamtsperma, Spermien oder Spermaplasma) ein PGM-Phänotyp bestimmt werden, in drei Proben war dies nicht möglich. Ein Unterschied der Nachweisbarkeit zwischen frischen und länger gelagerten Spermaproben bestand nicht.

Die in Sperma und homologen Hämolysaten ermittelten Phänotypen stimmten in allen Fällen überein.

In 18 von 19 untersuchten Spermaflecken konnte eine PGM-Typisierung vorgenommen werden. Hierbei war der Nachweis der PGM-Phänotypen vom Alter der Flecken (3 bis 30 Tage) unabhängig.

PGM-Phänotypen konnten in Spermienlysaten und im Sperma-

Tab. I PGM in der Stärkegelelektrophorese

Lfd. Nr.	Ausscheider	Blut	Gesamtsperma	Spermien	Spermaplasma	Alter der Proben	Spermaflecken	Alter der Flecken
1	se	2-1	2-1	2-1	2-1	24 h	2-1	21 T
2	Se	1	1	1	1	24 h	1	21 T
3	se	2-1	2-1	-	2-1	24 h	2-1	14 T
4	Se	1	1	1	1	24 h	1	14 T
5	Se	1	?	-	?	24 h	1	14 T
6	Se	2-1	2-1	2-1	2-1	24 h	2-1	14 T
7	Se	2-1	2-1	2-1	?	24 h	2-1	14 T
8	se	2-1	?	2-1	?	24 h	2-1	3 T
9	Se	1	1	1	1	24 h	1	3 T
10	Se	1	1	1	1	24 h	?	3 T
11	Se	2-1		2-1	2-1	24 h		
12	se	2-1		2-1	?	24 h		
13	Se	2-1	2-1			6 T		
14	Se	1	1			4 T	1	30 T
15	Se	1	1			4 T	1	30 T
16	Se	1	1			4 T	1	30 T
17	se	2-1	2-1			4 T	2-1	30 T
18	se	1		-		6 T	1	21 T
19	Se	1		1		6 T		
20	Se	1		1		6 T	1	21 T
21	Se	1		-		5 T	1	21 T
22	se	1		-		4 T	1	21 T
23	Se	1		-		4 T	1	21 T
24	Se	2-1		?	?	4 T		
25	Se	2		2		4 T		
26	se	2-1		2-1	?	4 T		
27	Se	1		?	?	3 T		
28	se	2-1		2-1	2-1	3 T		
29	se	2-1		?	2-1	3 T		
30	Se	2	?	-	-			

Ausscheider: Se = Ausscheider; se = Nichtausscheider
?: Bei diesen Proben war eine Typisierung nicht exakt möglich.
-: Bei diesen Proben zeigte sich keinerlei Färbung

plasma bestimmt werden. Auch hier war kein Unterschied zwischen den frischen und den längere Zeit gelagerten Spermaproben zu erkennen. Ein Nachweis ließ sich nicht in jedem Fall erbringen, teilweise zeigten sich nicht zu typisierende Anfärbungen im Elektropherogramm. Es ist zu vermuten, daß zwischen den einzelnen Proben Konzentrationsdifferenzen in Spermaplasma und den Spermien bestanden. Dies führt wohl dazu, daß in manchen Fällen die Konzentration der PGM in Spermaplasma bzw. in den Spermien allein nicht für eine elektrophoretische Darstellung der PGM-Phänotypen ausreicht.

Die untersuchten Spermaproben stammten sowohl von Ausscheidern als auch von Nichtausscheidern. Eine Abhängigkeit des PGM-Nachweises im Sperma von der Ausscheidereigenschaft konnte nicht beobachtet werden.

b) Glutamat - Pyruvat - Transaminase

Insgesamt wurden 24 Sperma- und 24 homologe Hämolysate untersucht. Weiterhin wurde versucht, in 11 Spermaflecken, die höchstens 24 Stunden alt waren, GPT nachzuweisen. Die Phänotypen waren in allen Hämolysaten leicht zu bestimmen.

In 13 Gesamtspermaproben, die überwiegend spätestens 24 Stunden nach der Gewinnung untersucht wurden, konnte nur einmal ein GPT-Phänotyp bestimmt werden.

In 11 Flecken und 11 Spermaplasmaproben, die ebenfalls innerhalb von 24 Stunden nach der Ejakulation untersucht wurden, konnte das Enzym nicht nachgewiesen werden.

In 24 Spermienlysaten konnte unabhängig vom Alter der entsprechenden Ejakulate (24 Stunden bis 5 Tage) 3 mal ein GPT-Phänotyp bestimmt werden.

Insgesamt konnte somit in 4 von 24 Ejakulaten ein GPT-Phänotyp bestimmt werden.

In allen Fällen, in denen der GPT-Typ im Sperma bestimmt werden konnte, zeigten die entsprechenden Probanden im

Hämolysat und im Ejakulat den Phänotyp 1.
Dieser GPT-Typ zeigt interessanterweise im Hämolysat die höchste Enzymaktivität der drei häufigsten Typen (CHEN und Mitarb., 1972; WELCH, 1972 b).

Drei der vier Probanden, in deren Spermaflüssigkeit die GPT nachgewiesen werden konnte, waren Ausscheider, einer Nichtausscheider.

c) Adenylatkinase

Die Ergebnisse der AK-Darstellung in der Stärkegelelektrophorese sind in Tabelle II dargestellt.

Untersucht wurden insgesamt 37 Ejakulate, 14 Spermaflekken und die homologen Blute. Das Alter der Spermaproben 1 - 16 betrug zum Zeitpunkt der Weiterbehandlung und Untersuchung höchstens 24 Stunden, das der Proben 17 - 37 zwischen 5 und 7 Tagen.

Bei 16 Ejakulaten, die binnen 24 Stunden untersucht wurden, konnte in 13 Fällen in einem der Untersuchungsansätze ein AK-Phänotyp bestimmt werden, der mit dem der homologen Hämolysate übereinstimmte.

Bei der Enzymbestimmung in 21 Spermaproben, die im Durchschnitt 6 Tage nach der Gewinnung untersucht wurden, ergaben sich wenig deutliche Ergebnisse. Ein Phänotyp konnte nur in 2 Proben bestimmt werden.

Die Adenylatkinase war in den Spermien und im Spermaplasma nachzuweisen. Der Nachweis war jedoch nicht regelmäßig zu erbringen. Ursächlich hierfür waren möglicherweise Konzentrationsdifferenzen in den Spermien und im Spermaplasma der einzelnen Proben.

8 von 14 Spermaflecken zeigten eine zu typisierende Enzym-Aktivität. In diesen Flecken konnte der AK-Phänotyp bei einem Fleckenalter von 7 Tagen ohne Schwierigkeiten bestimmt werden. Nach einer Lagerungsdauer von 14 Tagen zeigte sich in der Elektrophorese sowohl eine Abnahme der Aktivität in der AK-1-Bande als auch in der AK-2-Bande. Ein Nachweis des AK-Phänotyps war auch in diesen Flek-

ken noch möglich.

Eine Abhängigkeit des AK-Nachweises im Ejakulat von der Ausscheidereigenschaft war nicht zu erkennen.

Tab. II AK in der Stärkegelelektrophorese

lfd. Nr.	Ausscheider	Blut	Gesamtsperma	Spermien	Spermaplasma	Alter der Proben	Spermaflecken	Alter der Flecken
1	se	1	?	?	?	24 h	1	7 T
2	Se	1	-	-	-	24 h	-	7 T
3	se	1	-	1	?	24 h		
4	se	1	-	1	1	24 h	1	7 T
5	Se	1	-	-	-	24 h	1	7 T
6	Se	1	-	-	1	24 h	-	7 T
7	Se	1	-	-	-	24 h	-	7 T
8	Se	1	1	?	1	24 h	1	7 T
9	se	1	1	?	-	24 h	1	7 T
0	Se	1	1	?	-	24 h	1	7 T
1	Se	1	?	1	-	24 h	?	7 T
2	Se	1	1	?	1	24 h	1	7 T
3	Se	2-1	2-1	?	2-1	24 h	2-1	7 T
4	Se	1	1	?	?	24 h	-	7 T
5	Se	1	1	?	1	24 h	-	7 T
6	Se	1		-		24 h		
7	Se	2-1	-			5 T		
8	Se	1	-			5 T		
9	Se	1	-			5 T		
0	se	2-1	-			5 T		
1	se	1	-			5 T		
2	Se	1	-			5 T		
3	Se	1	-			5 T		
4	Se	1	1			6 T		
5	Se	1	?			6 T		
6	Se	1		-		6 T		
7	Se	1		-		7 T		
8	Se	1		-		7 T		
9	Se	1		-		7 T		

Lfd. Nr.	Ausscheider	Blut	Gesamtsperma	Spermien	Spermaplasma	Alter der Proben	Sperma flecken	Alter der Flecken
30	Se	1		1		7 T		
31	Se	1		-		7 T		
32	Se	1		-		7 T		
33	Se	1		?		7 T		
34	se	1		?	-	7 T		
35	Se	1		-	?	7 T		
36	se	1		?	?	7 T		
37	Se	1	-	-		7 T		

Ausscheider: Se = Ausscheider; se = Nichtausscheider
?: Bei diesen Proben war eine Typisierung nicht exakt möglich.
-: Bei diesen Proben zeigte sich keine Färbung.

d) 6-Phosphogluconat - Dehydrogenase

Die Ergebnisse der 6-PGD-Darstellung in der Stärkegelelektrophorese sind in Tabelle III dargestellt.
Untersucht wurden insgesamt 28 Spermaproben, 14 Spermaflekken und die homologen Hämolysate. Die Proben 1 - 16 wurden innerhalb von 24 Stunden nach der Gewinnung untersucht, die Ejakulate 17 - 32 wurden bis zur Untersuchung ca. 4 - 6 Tage gelagert. Die Flecken hatten bei der Untersuchung ein Alter von 2 - 7 Tagen.

In den länger gelagerten Spermaproben konnte nur selten 6-PGD nachgewiesen werden.

In 11 von 12 Spermaproben, die höchstens einen Tag alt waren, konnte ein 6-PGD-Phänotyp bestimmt werden, der mit dem der homologen Hämolysate übereinstimmte (jeweils Typ A). Hierbei war ein Nachweis häufig nur im Spermienlysat möglich, nicht aber im Spermaplasma.

In den Spermaflecken konnte nur in 6 Fällen ein 6-PGD-Phänotyp bestimmt werden. In den anderen Flecken war zwar 6-PGD-Aktivität nachweisbar, eine exakte Typisierung war jedoch nicht möglich. Die Ergebnisse waren unabhängig da-

von, ob die Flecken nach 2 oder 7 Tagen untersucht wurden.

Eine Abhängigkeit des 6-PGD-Nachweises von der Ausscheidereigenschaft war nicht zu erkennen.

b. III 6-PGD in der Stärkegelelektrophorese

d. .	Ausscheider	Blut	Gesamtsperma	Spermien	Spermaplasma	Alter der Proben	Spermaflecken	Alter der Proben
	se	A	-	A	-	24 h	A	2 T
	Se	A	-	A	-	24 h	A	2 T
	Se	A		A		24 h		
	se	A	A	A	-	24 h		
	se	A	A	A	-	24 h	?	2 T
	Se	A	A	A	-	24 h	?	2 T
	Se	A	?	-	-	24 h	?	3 T
	Se	A	-	A	-	24 h	?	3 T
	Se	A	-	A	-	24 h	?	7 T
	se	A	-	A	-	24 h	?	7 T
	Se	A	-	A	-	24 h	A	7 T
	Se	-	A	A	-	24 h	?	7 T
	Se	A				24 h	A	7 T
	Se	A				24 h	A	7 T
	Se	A				24 h	A	7 T
	Se	A				24 h	?	7 T
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	A			6 T		
	se	AB	-			6 T		
	se	A	-			6 T		
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	-			6 T		
	Se	A	?			6 T		
	Se	A		?		6 T		
	Se	A		?		4 T		

Lfd. Nr.	Aus-scheider	Blut	Gesamt-sperma	Sper-mien	Sperma-plasma	Alter der Proben	Sperma-flecken	Alter der Proben
29	se	A		-	-	4 T		
30	Se	A		-	-	4 T		
31	se	A		-	-	4 T		
32	Se	A	-	-	-	4 T		

Ausscheider: Se = Ausscheider; se = Nichtausscheider
?: Bei diesen Proben war eine Typisierung nicht exakt möglich.
-: Bei diesen Proben zeigte sich keine Färbung.

e) Adenosindesaminase

Untersucht wurden insgesamt 32 Spermaproben, 10 Spermaflekken und die homologen Hämolysate. Das Alter der Spermaproben und -flecken betrug bei der Untersuchung 1 - 6 Tage.

22 mal wurde versucht, ADA im Gesamtsperma nachzuweisen, 26 mal im Spermaplasma, 18 mal im Spermienlysat und 10 mal im Spermaflecken.

In keinem Fall konnte die ADA nachgewiesen werden, in den entsprechenden Hämolysaten war der ADA-Phänotyp ohne Schwierigkeiten zu bestimmen.

D. HAPTOGLOBIN

I. Literatur

Das Haptoglobin ist ein Bestandteil des Blutserums in der Fraktion der α_2-Globuline. Die Funktion des Haptoglobins besteht in der Bindung kleiner Mengen intravasal freigesetzten Hämoglobins. SMITHIES (1955) konnte drei unterschiedliche Haptoglobintypen mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese darstellen, deren genetische Kontrolle er und WALKER (1955) erkannten. Man kennt heute drei wichtige Varianten des Haptoglobins (1, 2-1 und 2) und einige Sondertypen (PROKOP, 1976).

Die Haptoglobin-Phänotypen sind sowohl an Leichenbluten als auch an älteren Blutspuren zu bestimmen; (PROKOP, 1976; MÜNSCHER, 1967; STALLBAUM, 1969). STALLBAUM (1969) konnte die Haptoglobin-Typen noch in der Immunoelektrophorese nachweisen, als dies im Stärkegel schon nicht mehr möglich war.

LEITHOFF und LEITHOFF (1961) war es möglich in Spermaplasma, das sie mittels Konzentrationsdialyse und Ultrafiltration eingeengt hatten, mit Hilfe der Immunoelektrophorese α_2-Globuline nachzuweisen. PROKOP und BUNDSCHUH (1963) konnten in den von ihnen mit der Stärkegelelektrophorese untersuchten Sperma- und Speichelproben Haptoglobin nicht nachweisen. SAYCE und REES (1977) waren aufgrund ihrer Ergebnisse bei Versuchen mit der Immunodiffusion der Meinung, daß im normalen menschlichen Ejukulat kein Haptoglobin nachzuweisen sei.

II. Methodik des Haptoglobin-Nachweises

Die Haptoglobin-Phänotypen wurden mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese und mit der empfindlicheren Immunoelektrophorese nachgewiesen.

a) Die Stärkegelelektrophorese:

Sie wurde durchgeführt in Anlehnung an SMITHIES (1955)

mit einigen Modifikationen.

Aufbereitung des Untersuchungsmaterials:

Serum und Spermaflüssigkeit wurden nativ verwendet. Der Speichel wurde auf dickes Filterpapier 5 x 7 mm dreimal aufgetropft und angetrocknet.

Die Materialien wurden dann mit Hämoglobinlösung versetzt und 20 min. bei Zimmertemperatur inkubiert. Aus den Spermaflecken wurden 5 x 15 mm große Stücke geschnitten, angefeuchtet und ebenfalls mit Hämoglobinlösung inkubiert. Das Serum - Hämoglobin - und das Sperma - Hämoglobin - Gemisch wurde mit dünnen Impfpapierchen (SCHLEICHER und SCHÜLL, 2043) in das Stärkegel eingebracht. Die Spermaflecken und der angetrocknete Speichel wurden direkt in das Gel eingeimpft.

Herstellung des Stärkegels:

Boratpuffer und Stärkegel wurden nach der Originalvorschrift der Firma BIOTEST hergestellt. Der pH des Gelpuffers lag bei 10,5 - 11, derjenige des Brückenpuffers betrug ca. 8,7.

Auftrennung:

Bei einer Spannung von 300 V dauerte die Auftrennung der Haptoglobin-Phänotypen 150 min. (nach einer Laufzeit von 15 min. wurden Filterpapierchen und Leinenläppchen aus dem Gel entfernt).

Färbung:

Der Stärkegelblock wurde im oberen Drittel quer durchgeschnitten und der untere Teil gefärbt. 0.05 g Benzidin und 0,2 g Bariumperoxydat wurden in 4 ml Aqua dest. und 4 ml Eisessig gelöst. Sodann wurde der untere Teil des Gelblocks mit Filterpapier bedeckt und das Benzidingemisch aufgetragen.

b) Immunoelektrophorese

Der Gelpuffer bestand aus einem kombinierten Puffersystem aus Agarpuffer nach HIRSCHFELD und Glycocoll-Puffer nach SÖRENSEN:

Agarpuffer nach HIRSCHFELD (pH 8,7):

8,3 g Veronal, 52,5 g Veronal-Natrium und 7,68 g Calcium-Lactat wurden mit H_2O auf 5 l aufgefüllt.

Glycocoll-NaOH-Puffer nach SÖRENSEN (pH 10,8):

Lösung I: 7,505 g Glycocoll und 5,85 g NaCl mit Aqua dest. auf 1 l aufgefüllt;

Lösung II: 0,1 n NaOH

Lösung I und II wurden im Verhältnis 52,5 : 47,5 vermischt und mit der doppelten Menge H_2O verdünnt; Puffer 1) und 2) wurden im Verhältnis 20 : 35 gemischt.

Der Brückenpuffer (nach HIRSCHFELD) wurde hergestellt aus 6,6 g Veronal, 43,8 g Veronal-Natrium und 1,92 g Calcium-Lactat, die in 5 l Aqua dest. gelöst wurden.

Der Gelpuffer wurde mit 2%igem Agar purum 15 min. im Wasserbad erhitzt und anschließend auf Objektträger gegossen (2 ml Gel/Objektträger). Nach Abkühlen des Gels wurden die Startlöcher ausgehoben und mit nativem Speichel und nativer Spermaflüssigkeit beimpft. Die Auftrennung erforderte bei 10 V/cm eine Laufzeit von 160 min. Nach der Auftrennung wurde der Antikörperkanal ausgehoben und mit einem Gemisch aus zwei Teilen Anti-Hp-Serum und einem Teil Anti-α_2-Makroglobulin der Firma BEHRING gefüllt. Die Diffusion dauerte 20 Stunden.

III. Ergebnisse und Diskussion

Untersucht wurden 23 Ejakulate, 11 Spermaflecken, 9 angetrocknete Speichelproben und die homologen Seren mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese. 10 native Sperma- und 7 native Speichelproben wurden mittels Immunoelektrophorese untersucht, wobei die Haptoglobintypen von Kontrollseren mitbestimmt wurden.

Das Alter der Proben betrug bei der Untersuchung 3 - 7 Tage, das Alter der Spermaflecken 1 - 3 Wochen.

Sowohl in der Stärkegelelektrophorese als auch in der

Immunoelektrophorese konnten die Haptoglobin-Phänotypen der Seren ohne Schwierigkeiten bestimmt werden. Die Haptoglobin-Banden stellten sich nach Anfärbung blau - violett dar, nach der Antiserum-Diffusion waren die Präzipitationslinien der einzelnen Haptoglobin-Phänotypen leicht nachzuweisen.

In Samenflüssigkeit, Spermaflecken und Speichel gelang ein Haptoglobinnachweis in keinem Fall.

Eine Typisierung von Sperma- oder Speichelspuren mit Hilfe des Haptoglobinnachweises ist somit nicht möglich. Ob eine Hp-Bestimmung in konzentriertem Spermaplasma möglich ist, wäre noch zu untersuchen.

E. DIE IMMUNGLOBULINEIGENSCHAFTEN Gm (1), Gm (2) und Inv (1)

I. Literatur

Die Immunglobulineigenschaften sind Merkmale des Blutserums. Es handelt sich um Bruchstücke der Immunglobulinmoleküle, die eine genetisch gesteuerte interindividuelle Variabilität aufweisen. Die Gm-Faktoren treten nur in der Immunglobulinklasse Ig G auf, sie sind genetische Marker der schweren Molekülketten; die Inv-Faktoren sind in den leichten Ketten der Immunglobulinmoleküle lokalisiert und somit in Molekülen aller Immunglobulinklassen vorhanden (PROKOP, 1976).

Den ersten Gm-Faktor beschrieben GRUBB sowie GRUBB und LAURELL (1956). Heute kennt man eine Vielzahl von Gm-Faktoren: PROKOP (1976) nennt 26 Faktoren (Gm (1) - Gm (26)), von denen allerdings einige miteinander identisch sind. Insgesamt drei Phänotypen zeigt die Eigenschaft Inv (Inv (1), (2) und (3)) (PROKOP, 1976). Untersucht werden die Immunglobulinmerkmale mit Hilfe eines Agglutinations-Inhibitions-Tests. (Das Prinzip dieses Verfahrens wird im Abschnitt "Methodik" erläutert).

Frühzeitig wurden die Immunglobulineigenschaften auch in Sperma und Speichel untersucht. KLOSE und SCHRAVEN (1961) versuchten, die Eigenschaft Gm (1) in der Samenflüssigkeit nachzuweisen. Sie fanden Gm (1)-Substanz im Spermasediment bis zu drei Tagen nach Probengewinnung. Sie berichteten von einer Abhängigkeit des Nachweises vom Ausscheidertyp des Spenders. Gm (1) konnte im Sperma von Nonsekretoren nicht nachgewiesen werden.

FÜNFHAUSEN und Mitarb. (1962) fanden bei der Untersuchung von teilweise inaktiviertem Speichel keinen Anhaltspunkt für die Präsenz von Gm (1).

KRÄMER (1962) konnte in Sperma und Speichel Gm-Substanz nicht nachweisen. Nach den Angaben von KRÄMER ergaben sich insbesondere in frischem Sperma und Speichel falsch positive Ergebnisse infolge der hohen Viskosität der Se-

krete. Teilweise schwach positve Ergebnisse führte er auf die Anwesenheit pathologischer zellulärer Elemente zurück. Er beobachtete auch teilweise positive Ergebnisse im Sperma, die an das Sediment gebunden waren.

NIELSEN und HENNINGSEN (1963, a) untersuchten Samenplasma und Spermasediment innerhalb von 56 Stunden nach der Gewinnung; bestimmt wurden der Sekretortyp und die Gm-Typen Gm (1), (2) und (3). In keinem Fall konnten Gm-Merkmale nachgewiesen werden. Leicht positive Ergebnisse zeigten keine Korrelation mit dem Sekretorstatus.

BLAKE und SENSABAUGH (1976) konnten bei der Untersuchung von 5 Spermaproben Gm- und Inv-Eigenschaften im Samenplasma nachweisen, nicht aber im Spermiensediment.

DAVIE und KIPPS (1976) untersuchten die Eigenschaft Inv (1) in menschlichem Sperma und Speichel. In beiden Flüssigkeiten konnte Inv-Substanz nachgewiesen werden, wobei die Ergebnisse mit denen in den homologen Blutproben identisch waren. Mehrfach zeigten sich falsch negative, sehr selten falsch positive Ergebnisse. Die Autoren fanden bei der Anwendung mehrerer handelsüblicher Antiseren, daß die Ergebnisse auch von deren Sensibilität abhängig waren. Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen sowie Zentrifugieren der Proben zur Gewinnung eines zellfreien Überstandes verringerte die Zahl der falsch negativen Ergebnisse, verhinderte sie jedoch nicht.

JORCH und OEPEN (1977) wiesen Gm- und Inv-Substanz in Samenflüssigkeit, Scheiden- und Nasensekret nach. Nur Inv-Substanz wiesen sie im Speichelflecken nach, im Schweiß wurden nur sehr geringe Konzentrationen von Immunglobulinmarkern gefunden.

Die Immunglobulineigenschaften zeigen eine große Stabilität, sie sind äußeren Einflüssen gegenüber sehr widerstandsfähig (GRUBB, 1956). JORCH und OEPEN (1977) konnten Inv- und Gm-Phänotypen in Spermaproben bis zu 2 Monaten, in Speichelproben bis zu 5 Monaten noch richtig bestimmen. Eine weitere wichtige Bedeutung erhält der Gm-Nach-

weis dadurch, daß die Gm-Phänotypen eine unterschiedliche Verteilung in verschiedenen Rassen und Populationen zeigen (BLANC und Mitarb., 1971; GRUBB, 1970).

Im Flecken können die Immunglobulinmerkmale mit zwei Methoden bestimmt werden: die Fleckenstücke können mit einigen Tropfen NaCl bzw. Ammoniak extrahiert werden, wobei der Extrakt wie 1 :10 verdünntes Blutserum untersucht wird (Elutionsmethode), oder die Spuren können direkt mit dem Antiserum reagieren (Absorptionsmethode). Diese beiden Methoden sind nach HAUPT (1964) bei der Untersuchung von Blutflecken gleichrangig.

Die Elutionsmethode wurde mit Erfolg zur Gm-Bestimmung in Blutflecken angewendet (FÜNFHAUSEN und Mitarb., 1962; NIELSEN und HENNINGSEN, 1963 b; HAUPT, 1964; MÜNSCHER, 1968).

Mit der Absorptionsmethode bestimmte LEONHARDT (1968) das Merkmal Gm (1) in Spermaflecken, die er 24 Stunden mit Gm (1)-Antiserum inkubierte. Gm-Substanz wurde nur in den Spermaflecken gefunden, die von ABO-Ausscheidern stammten. Unspezifisch positive Ergebnisse wurden dadurch hervorgerufen, daß das Leinenmaterial selbst einen Teil des Antiserums absorbierte.

DAVIE und KIPPS (1976) berichteten über gelungene Inv-Bestimmungen in Sperma- und Speichelflecken.

JORCH und OEPEN (1977) untersuchten in Sperma- und Speichelflecken die Präsenz des Merkmals Inv (1) mit Hilfe der Elutionsmethode, das in allen Fällen nachzuweisen war. In den Speichelflecken zeigten sich öfters nur schwache Reaktionen, sowie einmal ein falsch negatives Ergebnis.

II. Methodik[1)]

a) Prinzip:

Die Immunglobulinmerkmale werden indirekt nachgewiesen.

---

1) Frau G. Egger danken wir herzlich für die technische Assistenz

Zunächst werden Rh - positive Erythrozyten der Blutgruppe O mit einem inkompletten Anti-D-Serum einer Person beladen, die Träger der entsprechenden Gm- bzw. Inv-Eigenschaft ist (Sensibilisierung der Erythrozyten).

Das zu untersuchende Material (Serum u.a.) wird mit dem entsprechenden Anti-Gm- bzw. Anti-Inv-Serum inkubiert und absorbiert dieses, wenn in der Probe entsprechende Eigenschaften vorhanden sind.

Schließlich werden die sensibilisierten Erythrozyten zu dem Antiserum-Proben-Gemisch gegeben. Kommt es nach einer bestimmten Zeit zur Agglutination, so ist das entsprechende Merkmal in der Probe nicht vorhanden, tritt dagegen keine Agglutination ein, so ist die Eigenschaft nachgewiesen.

b) Durchführung:

Für unsere Versuche verwendeten wir Testsubstanzen der Firma MOLTER (Heidelberg). Im wesentlichen folgte die Versuchsanordnung der Originalvorschrift der Herstellerfirma.

Samenflüssigkeit und abzentrifugiertes Spermaplasma wurden mehrmals eingefroren und aufgetaut. Mit den Speichelproben wurde zum größten Teil ebenso verfahren, mehrere Proben wurden jedoch im Kühlschrank bei ca. $4^{o}C$ aufbewahrt.

Aus den Sperma- und Speichelflecken wurden 1 - 1,5 cm^2 ausgeschnitten. Die Fleckenstücke wurden fein zerschnitten und in einem Reagensglas mit 6 Tropfen einer 5%igen Ammoniaklösung mindestens 96 Stunden bei einer Temperatur von $4^{o}C$ eluiert.

Speichel, Sperma, Spermaplasma und Fleckeneluate wurden untersucht wie 1 : 10 verdünntes Blutserum. Das Anti-Inv (1)-Serum wurde im Verhältnis 1 : 5 bis 1 : 10 mit 0,9%iger NaCl verdünnt. Die Anti-Gm-Seren wurden in einer Verdünnung von 1 : 4 bis 1 : 8 verwendet.

Der Test wurde auf LAUER-Plättchen (Objektträger mit

Stegen) durchgeführt.

III. Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse sind in Tabelle IV dargestellt. Die Samen- und Speichelproben waren bei der Untersuchung 1 bis 3 Wochen alt. Die Lagerungsdauer der Flecken betrug zum Zeitpunkt der Bestimmung der Immunglobulineigenschaften 2 bis 7 Wochen.

In Sperma, Samenplasma und Speichel wurden die Merkmale Gm (1), Gm (2) und Inv (1) untersucht.

In 26 Ejakulaten konnten 23 mal die Phänotypen der Merkmale richtig bestimmt werden. In 3 Fällen zeigte sich nur eine schwache Reaktion, die nicht exakt zu typisieren war.

In 15 Spermaplasmaproben konnten in jedem Fall die auch im homologen Serum vorhandenen Phänotypen ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden. Die differierenden Ergebnisse, die bei der Untersuchung des Spermasediments gefunden wurden (KLOSE und SCHRAVEN; NIELSEN und HENNINGSEN), könnten durch unspezifische Adsorption von Gm-Substanz an die Zellwand der Spermatozoen verursacht worden sein.

In 27 Speichelproben konnten die richtigen Phänotypen 23 mal bestimmt werden. Einmal zeigten sich nicht zu typisierende Reaktionen, denn es kam zu Schlierenbildung, die von einer Agglutination nicht zu unterscheiden war; in 3 Fällen zeigte sich ein falsch negatives Ergebnis bei der Bestimmung eines Merkmals. Falsch negative Ergebnisse waren nur bei solchen Speichelproben zu beobachten, die nicht eingefroren worden waren. Dies bestätigt unserer Ansicht nach die Ergebnisse von DAVIE und KIRBS (1976), die eine Reduktion der Anzahl falsch negativer Ergebnisse durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen der Speichelproben erreichen konnten.
Möglicherweise wird die Absorption der Antikörper an die Immunglobulineigenschaften durch die Viskosität des nativen Speichels behindert.

Tabelle IV Ergebnisse des Gm1-, Gm2- und Inv-Nachweises in Sperma und Speichel

Lfd. Nr.	Ausscheider	Serum			Gesamtsperma			Spermaplasma			Speichel			Alter der Proben	Sperma-flecken		Speichel-flecken		Alter der Flecken
		Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1		Gm1	Gm2	Gm1	Gm2	
1	Se	–	–	–	–	–	–							21 T	–	–			7 Wo
2	Se	+	–	–	+	–	–							21 T	+	–			7 Wo
3	se	–	–	–	–	–	–							21 T	–	–			7 Wo
4	Se	–	–	–	–	–	–							21 T					
5	Se	+	–	–	+	–	–							21 T					
6	Se	–	–	–	?									21 T	–	–			7 Wo
7	Se	–	–	+	–	–	+							21 T					
8	se	+	–	–	+	–	–				–	–	–	21 T			+	–	7 Wo
9	Se	+	–	–							+	–	–	21 T			+	–	7 Wo
10	Se	–	–	–	–	–	–				–	–	–	14 T			–	–	7 Wo
11	Se	–	–	+	–	–	+				?			14 T	–	–	–	–	7 Wo
12	Se	–	–	+	–	–	+				–	–	–	14 T	–	–	–	–	7 Wo
13	se	+	+	+	+	+	+				+	+	+	14 T	+	+	+	+	7 Wo
14	Se	–	–	–	?						–	–	–	14 T					
15	Se	+	–	–	+	–	–				–	–	–	14 T	+	–	–	–	7 Wo
16	Se	–	–	–	–	–	–				–	–	–	14 T	–	–			
17	se	–	–	–	–	–	–							14 T	–	–			
18	Se	+	–	–	+	–	–				+	–	–	7 T	+	–	+	–	6 Wo
19	Se	+	–	–	+	–	–				+	–	–	7 T	+	–	+	–	6 Wo

Tabelle IV Ergebnisse des Gm1-, Gm2 und Inv-Nachweises in Sperma und Speichel

Lfd. Nr.	Aus-scheider	Serum			Gesamtsperma			Spermaplasma			Speichel			Alter der Proben	Sperma-flecken		Speichel-flecken		Alter der Flecken
		Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1		Gm1	Gm2	Gm1	Gm2	
20	Se	-	-	-	-	-	-				-	-	-	7 T			-	-	6 Wo
21	Se	-	-	-	?									7 T					
22	se	-	-	-	-	-	-				-	-	-	7 T			-	-	6 Wo
23Se	Se	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	7 T					
24	se	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	7 T			-	-	6 Wo
25	se	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	7 T	+	+			
26	Se	+	-	-	+	-	-	+	-	-				21 T			+	-	6 Wo
27	Se	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21 T	-	-	-	-	6 Wo
28Se	Se	+	-	-				+	-	-	+	-	-	21 T	+	-			
29Se	Se	+	-	+				+	-	+	+	-	+	21 T	+	-			
30	Se	+	-	-				+	-	-	+	-	-	21 T	+	-			5 Wo
31	Se	+	+	-				+	+	-	+	+	-	21 T					
32	Se	+	-	-				+	-	-	+	-	-	21 T					
33	se	+	-	-				+	+	-	+	+	-	21 T					
34	Se	-	-	-				-	-	-	-	-	-	21 T					
35	Se	+	+	-				+	+	-	+	+	-	21 T					
36	Se	+	-	-				+	-	-	+	-	-	21 T					
37	Se	+	+	-				+	+	-	+	+	-	21 T					
38		-	-												-	-	-	-	3 Wo

Tabelle IV Ergebnisse des Gm1-, Gm2 und Inv-Nachweises in Sperma und Speichel

Lfd.	Aus-scheider	Serum		Gesamtsperma			Spermaplasma			Speichel			Alter der Proben	Sperma-flecken		Speichel-flecken		Alter der Flecken
		Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1	Gm1	Gm2	Inv1		Gm1	Gm2	Gm1	Gm2	
39		+	+												+	-	+	+	3 Wo
40		+	-												+	-	+	-	3 Wo
41		+	+												+	+	-	-	3 Wo
42		+	-												-	-	-	-	3 Wo
43		+	-												+	-	+	-	3 Wo
44		-	-												-	-	-	-	2 Wo
45		+	-												+	+	+	-	2 Wo
46		+	-												+	-	+	-	2 Wo
47		-	-												-	-	-	-	2 Wo
48		+	-												+	-	+	-	2 Wo
49		+	-												+	-	+	-	2 Wo
50		-	-												-	-	-	-	2 Wo
51		-	-												-	-	-	-	2 Wo

?: Es zeigte sich nur eine schwache Reaktion, die nicht klassifiziert werden konnte.
_: Vom Phänotyp des Serums abweichende Ergebnisse wurden unterstrichen.

Der Gm (1)- und Gm (2)-Typ wurde in 31 Sperma- und 28 Speichelflecken bestimmt. 28 mal bzw. 24 mal konnten die richtigen Typen ermittelt werden. In insgesamt 6 Fällen wurde ein falsch negatives Ergebnis ermittelt, das (nach dem Ausfall des Ouchterlonytests) wahrscheinlich durch eine zu geringe Konzentration von Gm- Substanz im Eluat verursacht wurde (vgl. auch SCHWERD und MAD 1973). Einmal zeigte sich ein falsch positives Ergebnis (Gm (2)).

Eine Abhängigkeit des Gm (1)-, Gm (2)- und Inv (1)-Nachweises vom Sekretorstatus konnte im Gegensatz zu LEONHARDT nicht beobachtet werden.

Der Nachweis ließ sich auch in länger aufbewahrten Proben erbringen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt wurden Blut-, Sperma- und Speichelproben von 60 Probanden untersucht. Es wurde versucht, PGM, GPT, AK, 6-PGD und ADA im Sperma und Spermaflecken, sowie Hp, Gm (1), (2) und Inv (1) in Sperma und Speichel und Sperma- und Speichelflecken nachzuweisen. Die Abhängigkeit des Nachweises von der Ausscheidereigenschaft wurde untersucht.

- Nachgewiesen wurden:

  Im Sperma: regelmäßig AK und 6-PGD in frischen Proben, PGM sowie Gm (1), (2) und Inv (1) auch in länger gelagerten Proben; GPT war selten nachzuweisen, Hp und ADA in keinem Fall.

  Im Speichel: Gm (1), Gm (2) und Inv (1) in nahezu jedem, Haptoglobin in keinem Fall.

- Nachweis in Sperma- und Speichelflecken:

  Spermaflecken: PGM und Gm (1) sowie Gm (2) konnten in bis zu 7 Wochen alten Flecken regelmäßig nachgewiesen werden; AK und 6-PGD wurden teilweise in bis zu 2 Wochen alten Flecken bestimmt. ADA, GPT und Hp wurden nicht nachgewiesen.

  Speichelflecken: Gm (1) und Gm (2) konnten in nahezu allen 1 bis 3 Wochen alten Flecken bestimmt werden. Hp wurde in angetrocknetem Speichel nicht gefunden.

- Lokalisation in der Samenflüssigkeit:

  In Spermien und Spermaplasma waren PGM und AK nachzuweisen; nur in den Spermatozoen zu bestimmen waren die 6-PGD und die GPT; im Spermaplasma sind die Immunglobulinmerkmale lokalisiert.

- Alle in der Samenflüssigkeit und im Speichel ermittelten Phänotypen stimmten mit denen der homologen Blutproben überein. Eine Ausnahme hiervon war beim Nachweis der Faktoren Gm (1) und Gm (2) im Speichel zu beobachten: In 3 von 27 Fällen zeigte sich ein falsch negatives Ergebnis.
- Eine Abhängigkeit des Nachweises der verschiedenen Merkmale in Sperma und Speichel von der Ausscheidereigenschaft bestand nicht.
- Der Sekretortyp war in den meisten Fällen in Sperma und Speichel übereinstimmend zu ermitteln. In nativen Speichelproben, die älter als etwa 10 Tage waren, traten unspezifische Agglutinationen auf.

G. LITERATUR

Adams, Wraxall: Phosphatases in Body Fluids: The Differentiation of semen and vaginal secretion. For. Sc. 3, 57-62 (1974)

Blake, E. Sensabaugh, G.: Genetic markers in human semen. A review. J. Forens. Sci. 21, 784-796 (1976)

Blanc, M., Görtz, R. und Ducos, J. The value of Gm typing for determining the racial origin of blood stains. J. Forens. Sci. 16, 176-182 (1971)

Brady, Donovan, C.I.O': A study of the distribution of adenosine deaminase in six mammal species. Comp. Bioch. Physiol. 14, 101 (1965)

Brinkmann, B.: Bestimmung der Phosphoglukomutase-Typen aus Blutspuren. Z. ger. Med. 66, 31-34, (1969)

Brinkmann, B.: Erythrozytäre Enzympolymorphismen in der forensischen Serologie. Z. Rechtsmed. 69, 83-117 (1971)

Brinkmann, B., Koops, E.: Phosphoglucomutase (PGM) and 6-Phosphogluconate Dehydrogenase (PGD) Isozymes in Human sperm Cells. Humangenetik 14, 78-80 (1971)

Brinkmann, B., Thoma, G.: Kombinierte elektrophoretische Darstellung der Adenylatkinase (AK) und der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGD). Humangenektik 10, 358-359 (1970)

Cadwell, K., Blake, E.T., Sensabaugh, G.F.: Sperm . Diaphorase: Genetic Polymorphism of a Sperm Specific Enzyme in Man. Science 191, 1185-1187 (1976)

Chen, S.H., Anderson, J.E., Fossun, B.L.G.: Genetics of glutamic-pyruvic transaminase: Its inheritance, common and rare variants, population distribution and differences in catalytic activity. Ann. hum. Genet. 35, 401 (1972)

Chen, S.H., Donahue, R.P., Scott, C.R.: Characterization of Phosphoglycerate Kinase from Human Spermatozoa. Fert. Ster. 27, 699-701 (1976)

Chen, S.H., Giblett, E.R.: Polymorphisme of soluble glutamic-pyruvic transaminase: A new genetic marker. Science, 173, 148 (1971)

Culliford, B.: The determination of Phosphoglucomutase types in blood stains. J. for. Sc. Soc. 7, 131-133 (1967)

Culliford, B.J.: Phosphoglucomutase. The Examination and Typing of Bloodstain in the Crime Laboratory. Washington, 106-128 (1971) zit. nach Ress und Rothwell (1975) a.a.O..

Culliford, B.J.,
Wraxall, B G.D.:
Adenylate Kinase (AK) types in Bloodstains.
J. for. Sc. Soc. 8, 79 (1969)

Davie, M.J.,
Kipps, A.E.:
Km (1) (Inv (1)) typing of Saliva and Semen.
Vox. sang. 31, 363-367 (1976)

Fildes, R.A.,
Harris, H.:
Genetically determined variation of adenylate Kinase in man.
Nature 209, 261 (1966)

Fildes, R.A.,
Parr, C.W.:
Human red cell phosphogluconate dehydrogenases.
Nature 200, 890 (1963)

Fünfhausen, G.,
Sagan, Z.,
Schramm, K.:
Über den Nachweis von Gm_a in Blutspuren.
Z. Rechtsmed. 53, 18-27 (1962)

Grubb, R.:
Agglutination of erythrocytes coated with incomplete anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera.
Act. path. microbiol. scand. 39, 195-204 (1956)

Grubb, R.,
Laurell, A.B.:
Hereditary serological human serum group.
Act. path. microbiol. scand. 39, 390-397 (1956)

Grubb, R.:
The genetic markers of human immunoglobulins.
Springer-Verlag, Berlin, New York (1970)

Haupt, P.: Der Nachweis des Gm (a)-Faktors in Blutspuren. Med. Diss., Bonn (1964)

Höhn, P., Walter, Leithoff: Discelektrophoretische Differenzierung saurer Phosphatasen verschiedener Herkunft. Z. Rechtsmed. 68, 129-137 (1971)

Jorch, Ch., Oepen, I.: Nachweis der Faktoren Gm (1,2,4, 5,21) und Inv (1) in menschlichen Sekreten: Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma. Z. Rechtsmed. 79, 1-6 (1977)

Klose, I., Schraven, J.: Die Eigenschaft Gm^a im menschlichen Sperma und ihre Beziehung zur ABO-Ausscheidereigenschaft. Z. Rechtsmed. 52, 610-614 (1961/62)

Krämer, K.: Untersuchungen über das Vorkommen von Gm_a-Substanz in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten. Z. Rechtsmed. 53, 131-141 (1962/63)

Leithoff, H., Leithoff, I.: Der Nachweis von Bluteiweißkörpern im menschlichen Samenplasma mit Hilfe der Immunoelektrophorese. Z. Rechtsmed. 52, 523-524 (1961/62)

Leonhardt, H.-H.: Untersuchungen über optimale Verfahren zum Nachweis von Blut- und Serumgruppenmerkmalen in Spermaflecken.
Med. Diss., Marburg (1968)

Münscher, F.: Blindversuche zur ABO-, MN-, Hp- und Gm-Bestimmung an Blutflecken.
Med. Diss., Marburg (1968)

Nielsen, J., Henningsen, K.: Experimental Studies on the Determination of the Gm-Groups in Blood-Stains.
Med., Sci. Law 3, 49 (1963)

Nielsen, J., Henningsen, K.: Note on the Possibility of Demonstrating the Gm-Factors in Semen.
Med., Sci. Law 3, 272-281 (1963)

Oepen, I.: Dünnschicht-Stärkegelelektrophorese zur Bestimmung der Phosphoglukomutase-Typen an Blutspuren.
Z. Rechtsmed. 67, 309-312 (1970)

Oepen, I., Renninger, W., Hilgermann, R. Hirschhäuser, C.: Darstellung der sauren Phosphatase in Spermaspuren.
Ärztl. Lab. 17, 47-53 (1971)

Ostrowski, W., Rybarska, J.: Studies on human prostatic acid phosphomonoesterase.
Bioch. Biophys. Acta 105, 196-198 (1965)

Ostrowski, W. et al.: The role of neuramic acid on the heterogenity of acid phosphomonoesterase from human prostate gland. Bioch. Biophys. Acta 221, 297-306 (1970)

Price, G.J., Davis, A., Wraxall, B.G.D, Martin, A.D., Parkin, B.H., Emes, G., Culliford, B.J.: The typing of phosphoglucomutase in vaginal material and semen. Zentralbl. Rechtsmed. 11, 400 (1976)

Prokop, O., Bundschuh, G.: Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gm-Gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin. Walter de Gruyter & Co., Berlin (1963)

Prokop, O., Göhler, W.: Forensische Medizin. Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, New York (1976)

Quinlivan, A., Sullivan, H.: The identity and origins of antigens in human semen. Fert. Ster. 23, 873-878 (1972)

Race, R.R., Sanger, R.: Blood Groups in Man. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1975)

Radam, G., Strauch, H.: Nachweis der PGM_1-Phänotypen in Spermaspuren. Z. Rechtsmed. 69, 145-148 (1971)

Radam, G.: Methoden und Daten zur Anwendung genetischer Enzympolymorphismen in der forensischen Medizin. In: Perlick, Plenert (Hrsg.): Fortschritte der Hämatologie 4, Joh. Barth-Verlag, Leipzig, 185-292 (1977)

Rees, B., Rothwell, T.J.: Correlation of Phosphoglucomutase Isoenzymes in Blood and Semen. Lancet 1, 783 (1974)

Rees, B., Rothwell, T.J.: The identification of phosphoglucomutase isoenzymes in semen stains and its use in forensic casework investigation. Med., Sci. Law 15, 284-293 (1975)

Renninger, W., Sina, D.: Isoenzymmuster der Phosphoglukomutase der menschlichen Spermien ($Sp.-PGM_1$). Humangenetik 10, 85-87 (1970)

Rothwell, T.J.: The effect of storage upon the activity of phosphoglucomutase and adenylate kinase enzymes in blood samples and blood-stains. Med., Sci. Law 1o, 230-234 (1970)

Rothwell, T. J., Sayce, M.: The stability of PGM and AK isoenzymes in human tissues. J. Forens Sci. 19, 590-598 (1974)

Sayce, M., Rees, B.: The Immunological Analysis of Semen. Med. Sci. Law 17, 213-222 (1977)

Schulz, E.: Experimentelle Untersuchungen zum Nachweis von Substanzen des ABO-Blutgruppensystems und deren Medizinisch-Kriminalistische Bedeutung. Habilitationsschrift, Würzburg (1972)

Schwerd und Mad, G.: Beitrag zur Vaterschaftsbegutachtung durch Klärung der Genotypen im Gm-System. Beitr. Gerichtl. Med. XXX, 403-405 (1973)

Smithies, O.: Zone elektrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. Biochem. J. 61, 629 (1955)

Smithies, O., Walker, N.F.: Genetic Control of Some Serum Proteins in Normal Humans. Nature 175, 1265 (1955)

Smith, J.K., Whitby, L.G.: The heterogenity of prostatic acid phosphatase. Biochim. Biophys. Acta 151, 607-618 (1968)

Spencer, N., Hopkinson, D., Harris, H.: Adenosine deaminase polymorphism in man. Ann. Hum. Genet. 32, 9-14 (1968)

Stallbaum, V.: Über den immunoelektrophoretischen Nachweis von Haptoglobinen aus Blutspuren und gelagerten Hämolytischen Blutproben. Med. Diss. Hamburg (1969)

Sur, B.K., Moss, D.W., King, E.J.: Starch gel electrophoresis of prostatic acid phosphatase. Proc. Ass. Clin. Biochem. 2, 11-13 (1962)

Sutton, Whitehead: Iso-Electric Focusing of Seminal, Faecal and Vaginal Acid Phosphatases. For. Sc. 6, 109-114 (1975)

Suyama, H., Ohya, I., Fukae, T., Matsumoto, Y.: Acid phosphomonoesterase fractions in human seminal plasma by means of disc electrophoresis. Zitiert in: Zentralbl. Rechtsmed. 11, 400 (1976)

Suyama, H., Ohya, I., Imai, T., Nakasono, I.: Apparent polymorphism of acid phosphomonoesterase in human seminal plasma by gel electrofocusing and starch gel electrophoresis. Zitiert in: Zentralbl. Rechtsmed. 12, 73 (1977)

Ueno, S., Yoshida, H.: The electrophoretic heterogenity of prostatic acid phosphatase. Z. Rechtsmed. 72, 169-173 (1973)

Welch, S.G.: a) Glutamate-pyruvate transaminase in blood stains. J. Forens. Sci. Soc. 12, 605-607 (1972)

Welch, S.G.: b) Quantitative differences between the human red cell glutamate-pyruvate-transaminase phenotypes. Hum. Hered 22, 190 (1972)

Lebenslauf

Ich wurde am 25. Mai 1956 in Würzburg geboren. Mein Vater ist Bundesbahnbeamter, meine Mutter Hausfrau. Im Alter von 6 Jahren trat ich in die Pestalozzischule ein. Nach der vierten Volksschulklasse wechselte ich auf das Röntgengymnasium (mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig). Nach acht Jahren Gymnasium beendete ich 1974 mit dem Abitur meine Schulzeit. Im Wintersemester 1974/75 begann ich in Würzburg das Studium der Medizin, im Sommersemester 1976 zusätzlich ein Studium der Psychologie. Im Herbst 1978 begann ich bei Prof. Dr. Schwerd mit der Promotion. Nach dem Bestehen des zweiten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung im August 1979 absolvierte ich das Praktische Jahr an der Medizinischen Klinik, der Chirurgischen Klinik und der Psychiatrischen Klinik der Universität Würzburg. Im Oktober 1980 absolvierte ich den 3. Teil der Ärztlichen Prüfung.

Hans Steiner